**平成 25 年 3 月改訂
*平成 21 年 5 月改訂

製品コード:76311 / 76312

研究用試薬

下痢性病原体遺伝子増幅用プライマーセット

MORA-Primer

Diarrheal pathogens

取扱説明書

製品コード	76311	76312
包装量	各192pmol	各768pmol
容量	各120μ L	各120μ L x 4本
濃度	各1.6 pmol/μ L	
貯法	−20℃以下	
品質保証期限	製品ラベルに記載の有効期限参照	

１：使用目的

本製品は、人に食品や水を介して急性下痢症を起こす病原性細菌の主要な病原因子複数を同時に検出することを目的に開発されました。

２：Primer

表１に示した病原因子用プライマー 各 192 pmol /チューブ（各 120μL）8 組が、8 連 PCR チューブにセットになって入っています。各チューブ内容はチューブの番号に一致しています。

*表１

MORA-Primer Diarrheal pathogens

ﾁｭｰﾌﾞ	病原体名	和　名	検出対象	増幅領域のサイズ (bp)	陽性標準菌株
1	Enteroinvasive *E. coli/Shigella*	腸管侵入性大腸菌/赤痢菌	InvE (*virB*)	127	GTC 1932
2	Enterotoxigenic *E. coli*	腸管毒素原性大腸菌(ETEC)	LT	297	GTC 1066
	Enterohemorrhagic *E. coli/Shigella*	腸管出血性大腸菌(EHEC)	Shiga 1 (*stx-1*)	376	GTC 1061
3	Enteroinvasive *E. coli/Shigella*	腸管侵入性大腸菌/赤痢菌	*ipaB*	137	GTC 1911
	Enterohemorrhagic *E. coli*	腸管出血性大腸菌(EHEC)	Shiga 2 (*stx-2*)	272	GTC 1060
4	*Vibrio parahaemolyticus*	腸炎ビブリオ菌	*tdh*	368	GTC 2055
	Escherichia coli	腸管毒素原性大腸菌(ETEC)	ST1	171	GTC 1065
5	*Vibrio cholerae*	コレラ菌	CT (*ctxA*)	494	GTC 2158
6	*Yersinia* group	エルシニア属菌群	16S rDNA	316	GTC 0127
	Campylobacter jejuni	キャンピロバクター・ジェジュニ	*cdtA*	107	GTC 0259
7	Enteroinvasive *E. coli/Shigella*	腸管侵入性大腸菌/赤痢菌	*ipaH*	117	GTC 1932
8	*Salmonella* spp.	サルモネラ属菌	*invA*	422	GTC 0133
	Enteroaggregative *E. coli*	腸管凝集性大腸菌	EAST1	173	GTC 1066

**プライマーは TE バッファーに溶けています。

GTC 株及びその DNA は岐阜大学から有料で分譲を受けることが可能です。詳細は下記のホームページをご覧ください。

http://www1.gifu-u.ac.jp/~saikin21/top-page.htm

レベル2以上の病原体株の分譲を受けることができるのは、特定の設備を有する機関に限定されています。

詳細はホームページをご覧ください。

３：操作に必要な試薬・消耗品類

1) 酵素：*Taq polymerase* 、基質：dNTP mixture、及び反応系用 10x PCR バッファー
2) 再蒸留水（又は注射用蒸留水等滅菌蒸留水、若しくは DEPC 処理水）
3) フィルター付滅菌チップ（0.1～10μL 用、1～200μL 用）
4) PCR チューブ又は PCR プレート

４：ＰＣＲ

1）反応液組成（例）

酵素、基質およびバッファーを購入して、サンプル DNA を混合します。弊社では、*TaKaRa Ex Taq*® Hot Start Version を推奨致します。*TaKaRa Ex Taq*® Hot Start Version を使用した反応液組成例を下記に示します。

10 x *Ex Taq* Buffer		20μL
dNTP Mixture		20μL
Takara Ex Taq HS		1μL
サンプル DNA 溶液及び再蒸留水	計	109μL
全量		150μL

2）上記 1）の要領で調製した反応液を、新しい PCR チューブ等に 15μL ずつ分注します。

3）８組のプライマーセットを融かし、MORA-16 等で遠心してプライマーを底に集め、2）のチューブに 5μL ずつ加え（反応液合計 20μL）た後、フタをしてサーマルサイクラーにて増幅させます。

4）PCR 条件（例）

95℃：3 分 → （95℃：30 秒 → 55℃：30 秒 → 72℃：30 秒）×35 サイクル → 72℃：7 分

（注意：機種・機械によっては、条件温度に到達するよう機械の設定温度を変える必要が生じることがあります。）

５：注意事項

1） 本製品は研究用試薬であり、体外診断用医薬品の承認は受けておりません。

2） 増幅反応に使用するDNAの最適量は、25ng/チューブを基本として下さい。DNA量が多いとＰＣＲ反応が阻害されたり非特異反応が強く出ることがあります。

3） 病原因子（又は毒素）の遺伝子配列は菌株ごとに配列の違いがある場合があり、一つの菌種に属するすべての菌株を検出できない場合があります。またこれらの遺伝子は他の菌種にも分布していることがあり、検出対象以外の菌種でも増幅が認められる場合があります。従って、他法（培養法等）と必ずしも結果が一致するとは限らないことに注意して下さい。

4） 本製品の有効期間は、初回融解後の凍結融解、保存の仕方により異なります。凍結融解の回数が多くなる場合はその繰り返しを避けるため、別容器に数回分までを小分けして保存することをお奨めします。また必要量分取後は速やかに凍結してください。

5） チューブには数字が、フタにはアルファベットが加工されています。使用後はチューブとフタの向きを間違えないよう注意して下さい。同じ形状の新しい滅菌されたフタを使えば理想的です。

6） ＰＣＲ（polymerase chain reaction）に関する基本特許は F. Hoffman-La Roche 社が保有しています。本取扱説明書の記載内容はＰＣＲに関する特許の使用許可を示唆するものではありません。

製造元:

AMR Advanced Microorganism Research

エーエムアール株式会社

〒501-1111　岐阜県岐阜市大学北 2-210 - 1

電話番号 058(293)0610　 FAX 058(234)2487